

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANTONIONI ACÁCIO CAMPOS MOLITERNO

**IDENTIFICAÇÃO DO FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO DA BROCA DO
MORANGUEIRO: *Lobiopa insularis* (CASTELNAU, 1840) (COLEOPTERA:
NITIDULIDAE) E SUA APLICAÇÃO EM TESTES DE CAMPO**

CURITIBA

2017

ANTONIONI ACÁCIO CAMPOS MOLITERNO

**IDENTIFICAÇÃO DO FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO DA BROCA DO
MORANGUEIRO: *Lobiopa insularis* (CASTELNAU, 1840) (COLEOPTERA:
NITIDULIDAE) E SUA APLICAÇÃO EM TESTES DE CAMPO**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas,
Área de concentração em Entomologia, Setor de
Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Dr. Paulo H. Gorgatti Zarbin

Coorientador (a): Dra. Camila Borges da Cruz Martins

CURITIBA

2017

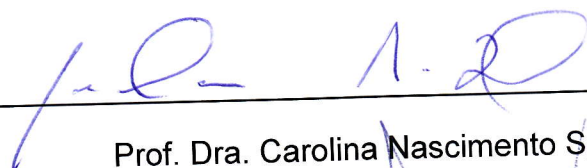
ANTONIONI ACÁCIO CAMPOS MOLITERNO

"IDENTIFICAÇÃO DO FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO DA BROCA-DO-MORANGUEIRO: *Lobiopa insularis* (CASTELNAU, 1840) (COLEOPTERA: NITIDULIDAE) E SUA APLICAÇÃO EM TESTES DE CAMPO"

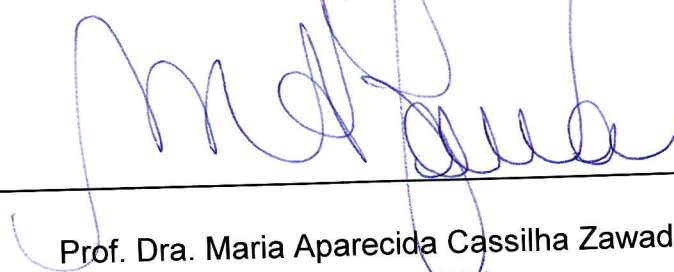
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de "Mestre em Ciências Biológicas", no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela comissão formada pelos professores:



Prof. Dr. Paulo H. Gorgatti Zarbin (Orientador)
(UFPR)



Prof. Dra. Carolina Nascimento Spiegel
(UFF/RJ)



Prof. Dra. Maria Aparecida Cassilha Zawadneak
(UFPR)

Curitiba, 16 de fevereiro de 2017.

Dedicatória:

*Aos meus pais, Antonio Jarbas Moliterno (*In Memoriam*) e Maria das Graças Campos Moliterno e aos meus queridos e estimados irmãos que sempre me apoiaram e me incentivaram.*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Paraná e ao Departamento de Entomologia pela oportunidade de realização do Mestrado.

Ao Prof. Dr. Paulo H. Gorgatti Zarbin e à Dr.^a Camila Borges da Cruz Martins pelas orientações e amizade.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa de Mestrado.

À Prof.^a Dr.^a Maria Aparecida Cassilha Zawadneak pelos ensinamentos e o enorme auxílio nas coletas de *L. insularis*.

À Prof.^a Dr.^a Lúcia Massutti de Almeida pelos auxílio e ensinamentos.

Aos Dr. Carlos Eugênio Martins e Dr. Wadson Sebastião Duarte da Rocha da Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Pelo enorme apoio, consideração, amizade e ensinamentos mesmo antes da realização do mestrado.

Ao Sr. Marcelo Leschnhak, produtor rural de São José dos Pinhais, PR, pela hospitalidade e o apoio na instalação das armadilhas em campo.

Aos Amigos do Laboratório de Semioquímicos da Universidade Federal do Paraná: Diogo, Daiane, Camila, Rodolfo, Sandra Mara, Maycon, Carla, Samara, Eliane, Leonardo, Luana e Maria.

Aos Amigos da Pós-Graduação em Entomologia, professores e alunos, pelos grandes ensinamentos que foram passados, bem como, aos ótimos momentos em aula e campo. MUITÍSSIMO OBRIGADO.

Aos Amigos, Alan Ripol, Ildernon, Robério Oliveira e Jámison Castro, pela grande amizade.

A minha família da qual obtive apoio, incentivo e compreensão, mesmo distante sentir enorme consideração, amor e fraternidade.

A todos que contribuíram para a finalização deste grande trabalho e etapa em minha vida, muito obrigado!

"A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original."

(Albert Einstein)

RESUMO

A broca-do-morangueiro, *Lobiopa insularis* (Coleoptera: Nitidulidae), é uma importante praga do morangueiro. Tanto larvas quanto adultos se alimentam dos frutos, inviabilizando-os para consumo e comercialização. A medida de controle mais utilizada é através de inseticidas sintéticos, que apresentam longo período de carência, baixa eficiência e alto impacto ambiental. Assim, visando minimizar o uso de inseticidas, contribuir no monitoramento da população da praga e no controle mais efetivo, objetivou-se extrair e identificar o feromônio de *Lobiopa insularis* e testar sua atratividade em campo. Os semioquímicos foram coletados através da técnica de aeração entre 12 a 24 horas em câmaras de vidro contendo separadamente, machos e fêmeas mais a fonte alimentar (morango). Os extratos contendo os voláteis adsorvidos foram analisados em Cromatógrafo Gasoso (CG) e CG acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM) e a caracterização química foi concluída através de coinjeções com os compostos sintéticos e sintético mais o extrato natural, além das comparações de Índices de Kovats (KI) e com a biblioteca do CG-EM. Armadilhas do tipo *pitfall* iscadas com diferentes combinações dos compostos mais a dieta (morango) foram instaladas aleatoriamente em canteiros de morangueiros para avaliar a atratividade dos compostos extraídos. Nos extratos analisados foram identificados três compostos macho-específicos, sendo duas cetonas e um álcool, 2-nonanona, 2-undecanona e 2-undecanol, respectivamente. Estes foram liberados nas quantidades de 0,3:6,03:1,5 ng/inseto/24h ou na proporção de 3:88:9, respectivamente, apenas durante a escotofase. O composto 2-undecanol apresentou a composição enantiomérica na proporção de 3,5:1, dos isômeros *S* e *R*, respectivamente. O tratamento T3 (2-undecanona + 2-nonanona + morango) diferiu dos tratamentos T2 (2-undecanona + 2-undecanol + morango), T4 (2-undecanona + morango) ($P = 0,01$) e T5 (hexano + morango) ($P = 0,001$). Nas armadilhas com iscadas, foram capturados 59% de machos e 41% de fêmeas, indicando que o feromônio de *L. insularis* tem função de agregação. A mistura ternária (T1) não diferiu da binária (T2) e da mistura binária de cetonas (T3). A mistura das cetonas (T3) é a mais promissora como atrativo em campo para adultos de *L. insularis* pela eficiência e menor custo.

Palavras-chave: Agregação 2-undecanona. 2-undecanol. 2-nonanona. Broca-do-morangueiro. Semioquímicos.

ABSTRACT:

Lobiopa insularis (Coleoptera: Nitidulidae) is an important pest of strawberry crops. Its larvae and adults feed on strawberry fruits, damaging them for consumption and commercialization. The most used measure of control is still based on pesticides, which have long grace periods, low efficiency, and high environmental impact. In this context, aiming to minimize the use of pesticides and to contribute for the monitoring of this pest in the field using a control method that is more effective, the objectives of this study were to extract and identify the pheromone of *L. insularis* and to test its attractiveness to adults in the field. Semiochemicals were collected using the aeration technique in periods of collection of 12-24 hours using glass chambers containing separately males and females, and a food source (strawberry). Extracts, which contained the adsorbed volatiles, were analyzed using a gas chromatograph (GC) and a GC coupled with a mass spectrometer (GC-MS). The chemical characterization was done through co-injections with synthetic standards, and synthetic standards and the natural extract, besides comparisons of Kovats Indices and the GC-MS library. Pitfall traps baited with different combinations of the identified compounds plus the food source (strawberry) were installed randomly in the crops to evaluate the attractiveness of the extracted compounds. The extracts showed the presence of three male specific compounds, identified as two ketones and an alcohol, 2-nonanone, 2-undecanone and 2-undecanol, respectively. These compounds were emitted in quantities of 0.3:6.03:1.5 ng/insect/24h or in proportions of 3:88:9, respectively, only during scotophase. The compound 2-undecanol presented its enantiomeric composition in a proportion of 3.5:1, of the isomers *S* and *R*, respectively. Treatment T3 (2-undecanone + 2-nonanone + strawberry) was different from treatments T2 (2-undecanone + 2-undecanol + strawberry), T4 (2-undecanone + strawberry) ($P = 0,01$) and T5 (hexane + strawberry) ($P = 0,001$). Pitfall traps captured 59% of males and 41% of females, indicating that the pheromone of *L. insularis* has an aggregation function. The ternary mixture of compounds (T1) did not differ from the binary mixture (T2) and from the binary mixture of ketones (T3). The binary mixture of ketones (T3) is the most promising attractant mixture to use in the field to capture adults of *L. insularis* because of its efficiency and reduced cost.

Keywords: Aggregation. 2-undecanone. 2-undecanol. 2-nonanone. Strawberry sap beetle. Semiochemicals.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – CICLO DE VIDA-DA-BROCA-DO-MORANGUEIRO <i>Lobiopa insular</i>	17
FIGURA 2 – COLETA DOS ADULTOS E IMATUROS DE <i>L. insularis</i>	21
FIGURA 3 – SISTEMA DE AERAÇÃO	22
FIGURA 4 – DIMENSÃO E MONTAGEM DA ARMADILHA	25
FIGURA 5 – ESQUEMA GERAL DA ARMADILHA NO CAMPO	26
FIGURA 6 – COMPARAÇÃO DOS CROMATOGAMAS PROVENIENTES DOS EXTRATOS DE MACHOS E FÊMEAS DE <i>Lobiopa insularis</i> (COLEOPTERA: NITIDULIDAE) DESTACANDO OS COMPOSTOS MACHO-ESPECÍFICOS .	27
FIGURA 7 – ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS MACHO-ESPECÍFICOS DE <i>Lobiopa insularis</i> (COLEOPTERA, NITIDULIDAE)	28
FIGURA 8 – COMPARAÇÃO DOS EXTRATOS MACHO-ESPECÍFICOS DE <i>Lobiopa insularis</i> (COLEOPTERA: NITIDULIDAE) NATURAL E SINTÉTICO	28
FIGURA 9 – QUANTIDADE MÉDIA (ng) (A) E PROPORÇÃO (B) DOS COMPOSTOS FEROMONAIIS MACHO-ESPECÍFICOS DE <i>Lobiopa insularis</i> (COLEOPTERA, NITUDULIDAE).....	29
FIGURA 10 – CROMATOGRAMA DOS ACETATOS (S/R) RACÊMICO E NATURAL.....	29
FIGURA 11 – Nº TOTAL DE <i>L. insularis</i> (COLEOPTERA, NITIDULIDAE) CAPTURADOS POR TRATAMENTO EM CAMPO (T1-T5).....	30

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – COMBINAÇÕES REALIZADAS ENTRE OS COMPOSTOS IDENTIFICADOS.....	25
---	----

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional De Vigilância Sanitária
CG	Cromatografia Gasosa ou Cromatógrafo Gasoso
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FID	Flame Ionization Detector
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IR	Índice de Retenção
KI	Índice de Kovats (<i>Kovat's indices</i>)
LMR	Limites Máximos de Resíduos
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MIP	Manejo Integrado de Pragas
PHEROBASE	Database of Insect Pheromones and Semiochemicals
PPM	Parte por milhão
PNCRC	Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes
SINDIVEG	Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 A CULTURA DO MORANGUEIRO	14
2.2 AS PRAGAS DO MORANGUEIRO.....	14
2.2.1 Biologia de <i>Lobiopa insularis</i>	15
2.2.2 Principais medidas de controle	16
2.3 ECOLOGIA QUÍMICA: O USO DE FEROMÔNIOS	17
2.3.1 Feromônios	18
3 OBJETIVOS.....	19
4 MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 COLETA E MANEJO DOS INSETOS	20
4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS.....	21
4.3 ANÁLISE DOS EXTRATOS	23
4.4 DETERMINAÇÃO DA CONFIGURAÇÃO ABSOLUTA DO 2-undecanol	23
4.5 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FEROMONAI.....	24
4.6 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE CAPTURA DOS COMPOSTOS FEROMONAI.....	24
4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	27
5 RESULTADOS.....	28
6 DISCUSSÃO	32
7 CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

Existem mais de 30 países produtores de morango no mundo. No Brasil, destacam-se as regiões Sul e Sudeste, nas quais o cultivo é realizado em sistema de produção convencional, integrada e orgânico (FAO, 2013; ANDRADE, 2013; DE OLANDA et al., 2016). Além disso, o fruto no mercado exibe grande aceitação sendo consumido *in natura* e processado (SPECHT, 2014).

Dentre os insetos que estão associados ao morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch) está a broca-do-morangueiro *Lobiopa insularis* (Castelnau, 1840) (Coleoptera: Nitidulidae), que ocasiona danos aos frutos; larvas e adultos podem comprometer seriamente a produção inviabilizando-na em até 70% (FORNAZIER et al., 1986; WILLIAMS, DE SALLES, 1986; GALLO et al., 2002; RONDON et al., 2004; GUIMARÃES et al., 2009). O controle de *L. insularis* é realizado com pulverizações de inseticidas sintéticos, sem a determinação precisa da densidade populacional e nível de dano econômico. A eficácia destes produtos é baixa, pois a praga entra nos frutos e o período de carência é alto (sete dias). Como resultado, há risco de ocorrência de resíduos nos frutos (PRICE; NAGLE, 2010; FORNARI et al., 2013; LIMA, 2015). Além disso, devido aos efeitos colaterais de sua aplicação, principalmente associado à utilização dos agrotóxicos, podem acarretar sérios danos ambientais, além atingir a saúde do agricultor (WHO, 2006; WHO; FAO, 2016).

Na busca de estratégias para uma agricultura sustentável e de medidas que visem à redução na aplicação de agrotóxicos em campo, aponta-se como alternativa o uso de feromônios, incluso no Manejo Integrado de Pragas (MIP) (TREMATERRA, 1997; PATERNIANI, 2001; FAIT et al., 2001; MICHEREFF; BARROS, 2001; GALLO et al., 2002). Feromônios são compostos naturalmente produzidos pelos insetos para a comunicação intraespecífica e são classificados de acordo com a função, por exemplo, sexual, de agregação, de alarme e de oviposição (VILELA, 1992; VILELA; LÚCIA, 2001; ZARBIN et al., 2009). Além dos feromônios atuarem como alternativa ao uso de agrotóxicos, eles corroboram para a conservação de espécies benéficas à agricultura (HOKKANEN, 1991; PIMENTEL et al., 1992; PIMENTEL, 2005; CRUZ et al., 2012).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DO MORANGUEIRO

O cultivo do morangueiro é amplamente distribuído pelo globo, sendo que os maiores produtores são os continentes Asiático e Americano, ao apresentarem uma produção de cerca de 4.005.000.0 toneladas. A China destaca-se como a maior produtora de morango em nível mundial, seguida pelo os Estados Unidos, com 1.360.869 toneladas (FAO, 2013). Na América do Sul, o principal produtor é o Chile, com produção estimada de 458.190 toneladas, encontrando-se na 18ª posição do ranking mundial; em 56º lugar, está o Brasil com uma produtividade média estimada de 320.000 toneladas (FAO, 2013; COELHO-JUNIOR, 2016a).

Dentre as regiões produtoras de morango no Brasil (Centro-Oeste, Sul e Sudeste), o estado de Minas Gerais destaca-se como o maior produtor, com produção estimada de 72,7 mil toneladas, seguido pelo Paraná e Rio Grande do Sul (CARVALHO et al., 2014). Devido ao cultivo do morangueiro ser realizado em várias regiões, inúmero cultivares já foram desenvolvidos com o objetivo de atender as possíveis condições ambientais locais, resistências a doenças e a busca pelo aumento da produtividade (ANDERSON; RODERICK, 2006; COSTA et al., 2014; COSTA et al., 2015; COELHO-JUNIOR, 2016b).

No Brasil, em função da variação climática e do manejo cultural, vários cultivares são utilizados, desde mudas importadas do Chile, Argentina e Espanha, aos produzidos nacionalmente (OLIVEIRA; BONOW, 2012; ANTUNES; PERES, 2013; PEREIRA et al., 2013; PAULETTI, 2014; COELHO-JUNIOR, 2016b).

2.2 AS PRAGAS DO MORANGUEIRO

Os principais artrópodes listados como causadores de injúria no cultivo do morangueiro são espécies de ácaros, por exemplo, *Tetranychus urticae* (Koch, 1836), de afídeos, *Aphis gossypii* (Glover, 1877), *Chaetosiphon fragaefolii* (Cockerell, 1901) e *Aphis forbesi* (Weed, 1889); de lepidópteros, *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847; *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) (COOLEY et al., 1996; FADINI et al., 2004). Além destes, sérios danos são registrados também por *Lobiopa insularis*. Dentre os danos causados, está o consumo dos frutos maduros por larvas

e adultos (LOUGHNER et al., 2007; BORTOLI et al., 2012; ZAWADNEAK et al., 2014; BERNARDI et al., 2015). Nas fases de larva e adulto essa espécie causa prejuízos de 20% a 70% da produção (FORNAZIER et al., 1986; GALLO et al., 2002; GUIMARÃES et al., 2009).

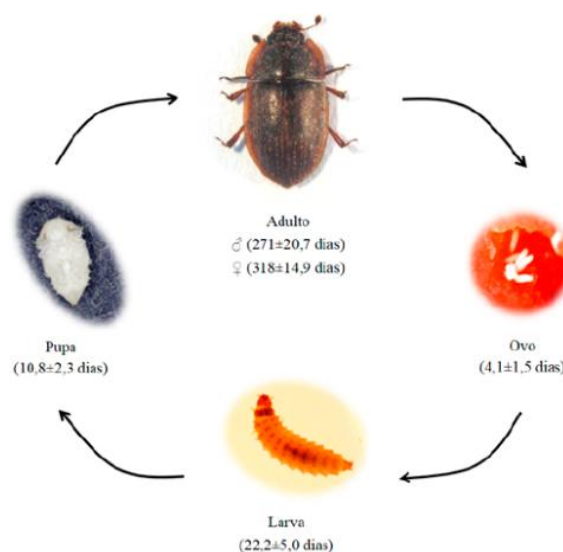
2.2.1 Biologia de *Lobiopa insularis*

Embora *L. insularis* seja endêmica do Neotrópico (PARSONS, 1943), sua ocorrência estende-se para as regiões Neártica e Paleártica (GARETH, 2015; LASON; PRZEWOZNY, 2009). Por sua ampla distribuição e hábito alimentar, vários países, dentre eles Brasil e Estados Unidos, têm tomado medidas de controle perante à infestação de *L. insularis* nos cultivos de morangueiro (RONDON et al., 2004; BOTTON et al., 2014).

A biologia de *L. insularis* foi realizada em laboratório e com ambiente controlado ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$; $70 \pm 10\%$; fotofase de 12h/escotofase: 12h). Os insetos adultos possuem em torno de 6 mm de comprimento e o corpo achatados dorso-ventralmente. O ciclo de vida de ovo a adulto de *L. insularis* (FIGURA 1), alimentados com dieta artificial à base de morango, durou em média 38 dias. As fêmeas tiveram maior (318 dias de vida) e os machos menor longevidade (271 dias de vida) (BORTOLI et al., 2014).

A oviposição ocorre sobre os morangos no campo. Após a eclosão, as larvas passam por quatro ínstares larvais, sendo que o último estágio larval deixa o fruto para empupar no solo (BENÁ; FUHRMANN, 2009; BOTTON et al., 2014). Larvas e adultos formam galerias nos frutos maduros, prejudicando-os para consumo *in natura* e processado (ROZEN, 1963; GALLO et al., 2002; FORNARI et al., 2013).

FIGURA 1 – CICLO DE VIDA DA BROCA-DO-MORANGUEIRO, *Lobiopa Insularis*.



FONTE: BOTTON et al (2014).

2.2.2 Principais medidas de controle

Os nitidulídeos possuem hábitos alimentares diversificados e podem ser detritívoros, fungívoros ou frugívoros (CLINE, 2005; CLINE; KINNEE, 2012). Em relação aos seus hábitos de vida, existem espécies que são listadas como pragas de grãos armazenados e cultivos de frutos, por exemplo, *Carpophilus lugubris* Murray, 1864 e *L. insularis* (POTTER et al., 2013; BOTTON et al., 2015; MYERS, 2016).

Na busca do controle destes insetos são empregados principalmente os agrotóxicos, que, em sua maioria, agem de forma prejudicial ao meio ambiente afetando diferentes espécies de animais e plantas, como insetos polinizadores e inimigos naturais (predadores e parasitoides) (CARSON, 1962; DA SILVA CUNHA et al., 2015; BEKETOV et al., 2013).

Para o controle de *L. insularis* são registrados os grupos químicos correspondentes aos seus princípios ativos: o análogo do pirazol (*clorfenapir*), piretroide (*alfa-cipermetrina*), benzoilureia (*teflubenzurom*). Os quais são classificados classe II e IV (BOTTON et al., 2005; FORNARI et al., 2013; AGROFIT, 2016). Contudo, uma das principais limitações no uso destes agroquímicos é o longo período de carência, o que restringe a colheita dos frutos. No verão, a colheita é diária e onde se dá maior pico de infestação da praga.

Dentre os métodos de monitoramento de *L. insularis* em campo estão a observação dos frutos com danos, com objetivo de avaliar a taxa de ocorrência da espécie e o emprego de armadilhas do tipo *pitfall* entre os morangueiros contendo morango macerado com inseticida organofosforado (diethyl (dimethoxythiophosphorylthio) succinate) (SALLES; WILLIAMS, 1983; FORNARI et al., 2013; BOTTON et al., 2014; AGROFIT, 2016).

Atento à saúde do agricultor e da lavoura e, conseqüentemente, à mesa do consumidor, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) e o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) destacaram o uso do organofosforado *O,S-dimethyl acetylphosphoramidothioate* acima da dosagem estabelecida. Além disso, constatou-se a presença de *tebufenpirade* um princípio ativo detectado no cultivo do morangueiro que é proibido no território brasileiro (BRASIL, 2008; AGROFIT, 2013; MAPA, 2014; PARA, 2014; ANVISA, 2016).

Além dos compostos organofosforados, pirazol, piretroides e benzoilureia compõem o quadro de agrotóxicos nocivos, no aspecto geral, há medidas técnicas que ainda são negligenciadas, por exemplo, o uso do Equipamento de Proteção Individual (EPI), a dosagem recomendada e o respeito da carência em relação à cultura (ARAUJO et al., 2001; RECENA; CALDAS, 2008; SILVA et al., 2014; MORI et al., 2015).

O avanço das pesquisas em campo visam a tomada de decisão consciente no controle de insetos-praga. Neste contexto, o Manejo Integrado de Pragas (MIP) tem como linha de iniciativa reduzir a utilização dos defensivos agrícolas, associando alternativas de controle que não provoquem ação maléfica ao meio ambiente e à saúde humana, agindo assim, em prol da agrobiodiversidade; os métodos que se destacam como alternativa são o controle biológico e o uso de feromônios (GALLO et al., 2002; PIRES et al., 2006; YANG et al 2014).

2.3 ECOLOGIA QUÍMICA: O USO DE FEROMÔNIOS

A Ecologia Química fundamentalmente visa o estudo dos semioquímicos (do grego *semeíon* = sinal, ou seja, estudo dos sinais químicos), os quais correspondem aos aleloquímicos e feromônios. Os aleloquímicos são compostos químicos que

estimulam indivíduos de espécies diferentes; os feromônios estimulam indivíduos da mesma espécie (KARLSON; LÜSCHER, 1959a; BERGSTROM, 2007).

Na interação interespecífica, os aleloquímicos são classificados de acordo com a relação emissor-receptor: cairomônio (sinal com benefício ao receptor), alomônio (sinal com benefício ao emissor) e sinomônio (sinal com benefício mútuo). Na relação intraespecífica os feromônios estão relacionados de acordo com a ação gerada, por exemplo, feromônio de sexual, de alarme, agregação e oviposição (ZARBIN et al., 2009).

2.3.1 Feromônios

Os primeiros estudos comportamentais de atração sexual em insetos datam dos trabalhos do renomado entomologista Jean-Henri Fabre (1823-1915) que investigou o hábito de vida de *Saturnia pyri* (Denis & Schiffermüller, 1775) (Lepidoptera: Saturniidae) e do seu deslocamento em busca do sexo oposto percorrendo consideráveis distâncias. Na época, associou-se esta localização aos sentidos auditivo, visual e olfativo (FABRE, 1912; WHEELER, 1916). Em 1959, Adolf Friedrich Johann Butenandt e colaboradores identificaram o primeiro feromônio, nomeado de Bombicol ((*E,Z*) 10, 12-hexadecadien-1-ol), a partir de glândulas de fêmeas do bicho-da-seda (*Bombyx mori* Linné, 1758) (KARLSON; BUTENANDT, 1959b; BUTENANDT et al., 1959).

O uso de feromônios tem sido um grande aliado no desenvolvimento de técnicas de controle mais limpos e efetivos, no combate ao uso recorrente de pesticidas contra insetos-praga (WRIGHT, 1964; FERREIRA; ZARBIN, 1998; WILSON et al., 2016).

Os principais métodos relacionado à utilização de feromônios são o monitoramento, a confusão sexual e a captura em massa, que podem ser utilizados em cultivo orgânico, convencional e até na produção armazenada (VILELA, 1992; MOREIRA et al., 2005a; SANTOS et al., 2016). A técnica do monitoramento permite ao agricultor conhecer a flutuação populacional do inseto-praga em sua lavoura, estabelecendo um manejo consciente em áreas de grande infestação; a técnica da confusão sexual, baseia-se na saturação do ambiente com feromônio sexual dificultando o encontro entre os sexos e, conseqüentemente, a cópula, promovendo a diminuição da população em campo; a técnica da captura em massa consiste em

atrair e capturar o máximo de indivíduos possível, com o intuito geral de promover um decréscimo na população em campo (ZARBIN et al., 2009; PINTO-ZEVALLOS; ZARBIN, 2013; MORAES; AVILA, 2014).

2.3.2 Feromônios em Nitidulidae

Os feromônios identificados em coleópteros são, em sua maioria, liberados pelos machos. Além disso, é também relatada a liberação de feromônios por fêmeas, e em alguns casos por ambos os sexos (EL-SAYED, 2016).

Estudos sobre a ecologia química dos nitidulídeos, família a qual pertence *L. insularis* e que apresenta mais de 3000 espécies descritas, indicam que apenas 36 espécies distribuídas em 12 gêneros tiveram compostos atrativos ou compostos feromonais identificados, sendo os feromônios em sua maioria de agregação e liberados por machos (LASOÑ; GHAHARI, 2013; EL-SAYED, 2016).

Atualmente, no manejo de nitidulídeos descritos como insetos-praga, há o uso de feromônios de agregação, por exemplo, para *Carpophilus* spp. uma importante praga de grãos armazenados e cultivo de frutos em geral (CONNELL et al., 1997; HOSSAIN; WILLIAMS, 2003; BARTELT; HOSSAIN, 2010). Em campo, o uso de compostos de agregação atua ainda como atrativo para indivíduos do mesmo gênero de *Carpophilus* spp. (CONNELL et al., 1997; BARTELT et al., 1992; BLUMBERG et al., 1993; JAMES et al., 1996; JAMES et al., 2000).

O gênero *Lobiopa* Erichson 1843 possui mais de 20 espécies descritas (CLINE; SCOTT, 2012). Para o gênero, ainda não há evidências relacionadas a compostos feromonais de agregação. De modo geral, conhecer esses compostos se torna uma forte ferramenta em programas de monitoramento de insetos-praga (MOREIRA et al., 2005a; ZARBIN, 2009; BARTELT; HOSSAIN, 2010).

3 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi investigar se há evidência de compostos feromonais da broca-do-morangueiro, *Lobiopa insularis*, e assim, testar sua eficiência no campo através de armadilhas atrativas.

Os objetivos específicos foram:

- Criar larvas e adultos de *L. insularis* em laboratório para coleta dos voláteis;
- Extrair, isolar e determinar a composição química dos voláteis de grupos individualizados de machos e fêmeas para posterior análise;
- Identificar e quantificar os compostos obtidos das aerações de machos e de fêmeas de *L. insularis*;
- Avaliar a atratividade em campo de *L. insularis* a diferentes combinações dos compostos sintéticos identificados em laboratório;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COLETA E MANEJO DOS INSETOS

Os adultos e larvas de *L. insularis* foram coletados em morangueiro sob sistema de produção convencional (Cultivar Albion) localizadas na Colônia Murici (Latitude:-25°.613302, Longitude:-49°.082794) em São José dos Pinhais, Paraná, Brasil de agosto a dezembro de 2015. Os espécimes foram coletados no período produtivo do morango, acondicionados em potes plásticos com morango como fonte alimentar (FIGURA 2) e transportados para o Laboratório de Semioquímicos, Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná.

A identificação dos indivíduos baseou-se em Parsons (1943) e a sexagem em Guimarães et al. (2009). Os insetos foram mantidos em laboratório em BOD (25 ± 1°C; 70 ± 10%; Fotofase: 12h) e sendo alimentados com frutos de morango (BORTOLI et al., 2014).

FIGURA 2 – ESTUFA DE MONGUEIROS “ALBION” ONDE FORAM REALIZADAS AS COLETA DOS ADULTOS E IMATUROS DE *Lobiopa insularis*.



FONTE: O Autor (2016).

LEGENDA: A) Vista interna da estufa; B) Amostra de morangos e insetos coletados.

O objetivo inicial era a criação de *L. insularis* em laboratório para se obter indivíduos virgens para realizar a coleta dos voláteis. No entanto, não foi possível estabelecer o número de adultos virgens suficientes seguindo a metodologia de Bortoli et al. (2014) à base de dieta artificial de morango, sendo o principal entrave nos estágios de pupa para adulto. Deste modo, optou-se por se utilizar indivíduos oriundos do campo.

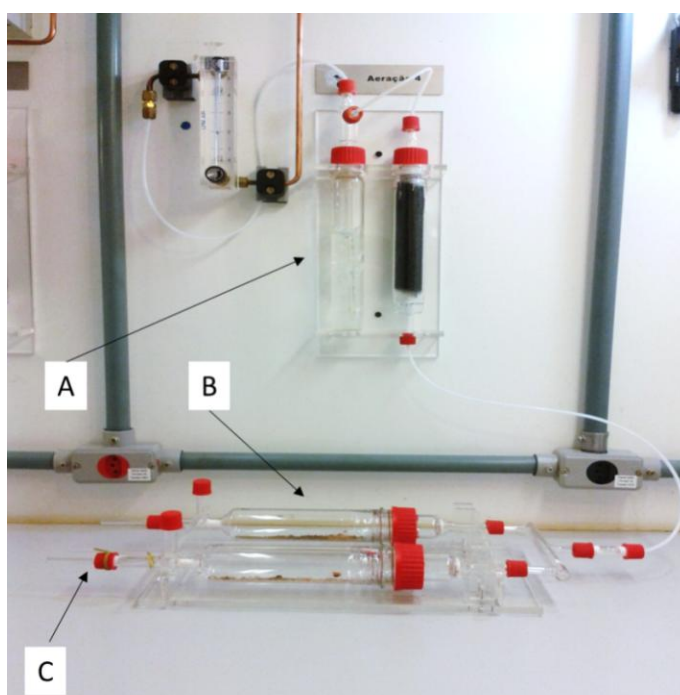
4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS

No laboratório, os semioquímicos produzidos por machos e fêmeas oriundos do campo, foram coletados seguindo a metodologia de Zarbin et al. (2001), em de câmaras de aeração, sob condições controladas ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$; 12h: 12h).

Os extratos foram produzidos a partir da técnica de aeração, a qual consiste na captura de voláteis liberados pelos insetos contidos em câmaras de vidro com alimento (FIGURA 3). De modo geral, o ar entra no sistema, é umidificado e filtrado ($1 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ / câmara) através de água destilada e carvão ativado, respectivamente, e segue em direção às câmaras de vidro (35 cm de comprimento x 4,5 cm de diâmetro) contendo, separadamente, um grupo de 4 machos e 4 fêmeas,

alimentados com morango *in natura*. Na porção final do sistema, encontra-se uma coluna contendo 20 mg de polímero adsorvente HayeSep para captura dos voláteis. As extrações foram realizadas a cada 24 horas e os insetos foram substituídos conforme o necessário. Extratos de 12 horas também foram produzidos com o intuito de se conhecer o período de liberação dos compostos feromonais (fotofase ou escotofase).

FIGURA 3 - SISTEMA DE AERAÇÃO



FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: A) Entrada de ar no sistema e colunas contendo água destilada e carvão ativado.

B) Câmaras de aeração contendo insetos e alimento.

C) Coluna contendo polímero de adsorção HayeSep.

Os extratos de 24 horas foram obtidos através da lavagem das colunas de adsorção com hexano bidestilado (HPLC grade) e os extratos foram armazenados em vials de 2 mL, totalizando 400 μL . Posteriormente, os extratos foram concentrados em um fluxo de $1 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ de ar comprimido para 80 μL e, em seguida, analisados.

4.3 ANÁLISE DOS EXTRATOS

Os extratos foram analisados através da técnica de cromatografia gasosa (GC 2010 – Shimadzu) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS-QP 2010 Plus – Shimadzu). Em ambas as análises, utilizou-se coluna cromatográfica RTX-5 (30 m x 0,25 mm d. i. x 0,25 μ m de espessura de filme; J&W Scientific, Folsom, Califórnia, EUA). Foi injetado 1 μ L do extrato no modo splitless, com a temperatura do injetor a 250 °C. A temperatura do forno iniciou em 50 °C por um minuto, elevando-se 7 °C por minuto até 250 °C, e conservada por 10 minutos. Utilizou-se como gás de arraste o hélio com fluxo de 1 mL minuto⁻¹. Todas as análises foram realizadas utilizando os mesmos parâmetros.

Além disso, utilizou-se a técnica de análise de infravermelho (GC-FTIR GC 2010 – Shimadzu), com o equipamento equipado com coluna cromatográfica DB-5 (0,25 μ m, 0,25 m x 30 m; J&W Scientific, Folsom, Califórnia, EUA) e os mesmos parâmetros já descritos acima. O detector fotocondutivo de mercúrio-cadmio-telúrio (MCT) resfriado por nitrogênio líquido foi utilizado com FT-IR de resolução de 8 cm⁻¹.

As análises de determinação do Índice de Kovats (KI) e as coinjeções dos extratos com os compostos sintéticos foram realizadas no equipamento de GC/MS descrito acima. Os compostos obtidos, foram identificados com base em comparações de KI, espectro de massas (Biblioteca), espectro de infravermelho, além de coinjeções com padrões sintéticos.

4.4 DETERMINAÇÃO DA CONFIGURAÇÃO ABSOLUTA DO 2-undecanol

As análises para determinação da estereoquímica absoluta do 2-undecanol produzido naturalmente pelo inseto foram realizadas em cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC-2010 FID), utilizando uma coluna com fase estacionária quiral β -ciclodextrina (Agilent HP-Chiral-20B - 30 m x 0,25 mm, partícula 0,25 μ m). O programa de temperatura das análises foi uma isoterma de 80 °C. Para obtenção de padrões dos álcoois quirais foi realizada uma resolução cinética enzimática do 2-undecanol racêmico utilizando a enzima CAL-B, obtendo-se assim o (*R*) e (*S*)-2-undecanol. Para separação dos isômeros foi realizada a derivatização do álcool uma vez que este não apresentou boa separação na coluna quiral. Foi preparado o acetato correspondente do álcool, o qual foi analisado e resultou em uma boa

resolução entre os isômeros. Para determinação da estereoquímica absoluta foi preparado o acetato do 2-undecanol racêmico, (*S*) e (*R*)-2-undecanol e do extrato natural. Através da comparação entre os tempos de retenção foi possível atribuir a estereoquímica do composto natural.

4.5 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FEROMONAIIS

A quantificação dos compostos contidos nos extratos foi realizada após identificação através de uma curva de calibração utilizando os compostos sintéticos correspondentes obtidos comercialmente (2-undecanona - Sigma-Aldrich) ou sintetizados em laboratório. A síntese foi realizada a partir da redução da 2-undecanona para a produção do 2-undecanol e a 2-nonanona a partir da oxidação do 2-nonanol. Foram realizadas diluições e diferentes concentrações (0,05, 0,1, 1 e 5 ppm) foram injetadas em GC-MS, com os mesmos parâmetros utilizados para a análise dos extratos.

4.6 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE CAPTURA DOS COMPOSTOS FEROMONAIIS

Os testes de campo foram realizados no local de coleta de insetos descrito, entre os meses de setembro a dezembro de 2016. A partir dos compostos identificados foram selecionadas diferentes combinações de compostos para os testes de atratividade (QUADRO 1). Septos de borracha foram impregnados com 150 µL das soluções. Os tratamentos usados no experimento foram os compostos 2-undecanona + 2-undecanol (*racêmico*) + 2-nonanona + morango (T1); 2-undecanona + 2-undecanol (*racêmico*) + morango (T2); 2-undecanona + 2-nonanona + morango (T3); 2-undecanona + morango (T4); e controle = hexano + morango (T5) nas proporções de 0,3:1,5:6,0 e quantidades de 1,17:0,51:5 mg de 2-undecanol, 2-nonanona e 2-undecanona por armadilha, respectivamente.

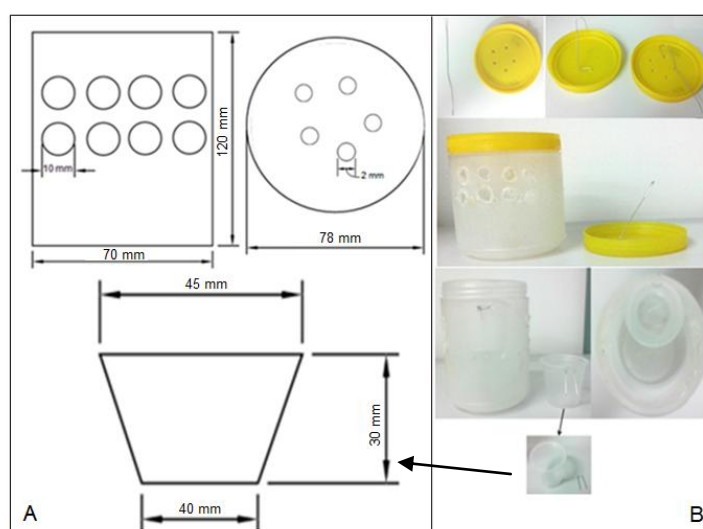
QUADRO 1 - COMBINAÇÕES REALIZADAS ENTRE OS COMPOSTOS IDENTIFICADOS

TRATAMENTO	COMPOSIÇÃO			
	2-undecanona	2-undecanol	2-nonanona	morango
1	+	+	+	+
2	+	+	-	+
3	+	-	+	+
4	+	-	-	+
5*	-	-	-	+

LEGENDA: *controle = hexano; presença (+) e ausência (-).

Para avaliação em campo foram confeccionadas armadilhas do tipo *pitfall* com altura de 120 mm e 70 mm de diâmetro (FIGURA 4 A). Foram realizados 16 furos (oito de cada lado) com 10 mm de diâmetro para a entrada dos indivíduos atraídos (FIGURA 4). As tampas foram furadas com diâmetro de 2 mm para passagem da peça de arame com comprimento de 10 cm utilizada para iscar os septos de borracha impregnados com o devido tratamento (FIGURA 4 B). Para adicionar a dieta às armadilhas foi necessário a inserção de um recipiente de plásticos (30 mL), com 30 mm de altura e 45 mm de diâmetro (FIGURA 4 A). A dieta foi estabelecida de forma padronizada, com meio fruto de morango totalmente maduro por armadilha. O modelo da armadilha (*pitfall*) foram baseados em Kelts (2005) e Botton et al. (2014).

FIGURA 4 – DIMENSÃO E MONTAGEM DA ARMADILHA



FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: A) Desenho e dimensionamento da armadilha

B) Etapa geral de montagem da armadilha

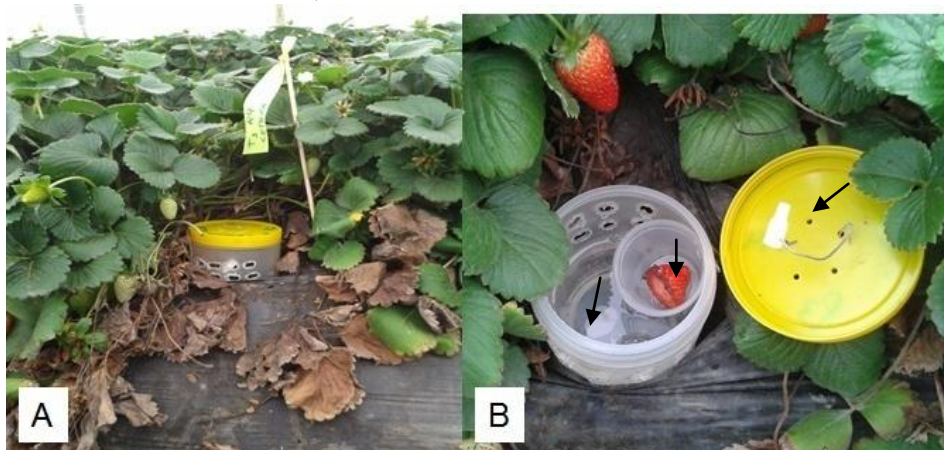
No campo, cada armadilha foi instalada entre os morangueiros e em cavidades no solo com 5 cm de profundidade, o objetivo foi deixar os furos das armadilha ao nível do solo. Pelo crescimento do morangueiro encobrir as armadilhas, estas foram sinalizadas com fita amarela e identificadas com o tratamento para a sua recuperação, e também para averiguar se houve insetos capturados (FIGURA 5 A).

Para a retenção dos adultos empregou-se o uso de 250 mL de água com detergente neutro a fim de quebrar a tensão superficial da água (FIGURA 5 B).

De modo geral, foram quatro testes de campo com cinco repetições cada, totalizando 20 repetições com 100 armadilhas. Os testes foram realizados em cinco estufas com 120 metros e possuindo seis canteiros de morango cada. Os morangueiros plantados nas estufas possuíam idades diferentes, com duas sendo mais velhas referentes à 2013, outras duas à 2014 e a última de 2015. Devido ao comprimento da estufa, os tratamentos foram espaçados a cada 24 metros, sendo as armadilhas dispostas aleatoriamente entre os canteiros, totalizando assim, 5 tratamentos por estufa.

As coletas das armadilhas foram realizadas após 14 dias, as quais foram transportadas para o laboratório e efetuada a triagem dos indivíduos capturados.

FIGURA 5 – ESQUEMA GERAL DA ARMADILHA NO CAMPO



FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: A) Armadilha (*Pitfall*) em campo enterrada à 5 cm no solo (vista aproximada);

B) Conteúdo da armadilha: septo, dieta natural e água com detergente (setas).

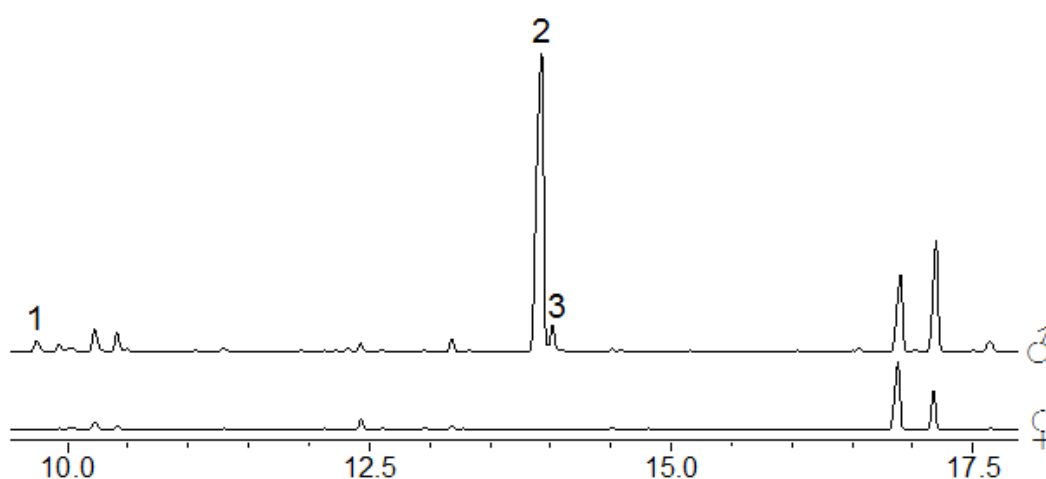
4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para a avaliação dos testes de campo foi utilizado o programa BioEstat 5.0. (AYRES, 2007) para o teste de normalidade Shapiro-Wilk, a transformação pela raiz quadrada e o teste paramétrico de Análise de Variância (ANOVA), seguido do teste t (LSD: Least Significant Difference) com significância de 5% para estabelecer a comparação entre as médias dos tratamentos. Os dados considerados como outliers foram retirados das análises.

5 RESULTADOS

Após as análises dos 40 extratos de machos e fêmeas de *L. insularis*, constatou-se a presença de três compostos macho-específicos (FIGURA 6).

FIGURA 6 – COMPARAÇÃO DOS CROMATOGAMAS PROVENIENTES DOS EXTRATOS DE MACHOS E FÊMEAS DE *Lobiopa insularis* (COLEOPTERA: NITIDULIDAE) DESTACANDO OS COMPOSTOS MACHO-ESPECÍFICOS (1-2-3)



Os compostos 1 (TR: 9,667; KI 1087), 2 (TR: 13,867; KI 1296) e 3 (TR: 13,992; KI 1303) apresentaram os espectros de massas como na FIGURA 7 e foram previamente identificados como 2-nonanona (1), 2-undecanona (2) e 2-undecanol (3). Após a coinjeção do extrato natural com os padrões sintéticos correspondentes (FIGURA 8), confirmou-se a identificação dos compostos.

Ao ser realizada a curva de calibração ($R^2 = 0.997$), a quantificação dos compostos (em ng/inseto/24 horas) foi de $0,30 \pm 0,15$ ng para 2-nonanona, de $6,03 \pm 5,15$ ng para 2-undecanona e de $1,50 \pm 1,37$ ng para 2-undecanol (FIGURA 9 A). A proporção encontrada foi de 3:88:9, respectivamente (FIGURA 9 B).

Os resultados das extrações a cada 12 horas (fotoperíodo) indicaram que a emissão destes compostos ocorreu apenas durante a escotofase.

Em relação à identificação da mistura enantiomérica do 2-undecanol, os resultados indicaram que a proporção encontrada no extrato natural foi de 3,5:1 para os isômeros *S* e *R*, respectivamente (FIGURA 10).

FIGURA 7 – ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS MACHO-ESPECÍFICOS DE *Lobiopa insularis* (COLEOPTERA, NITIDULIDAE)

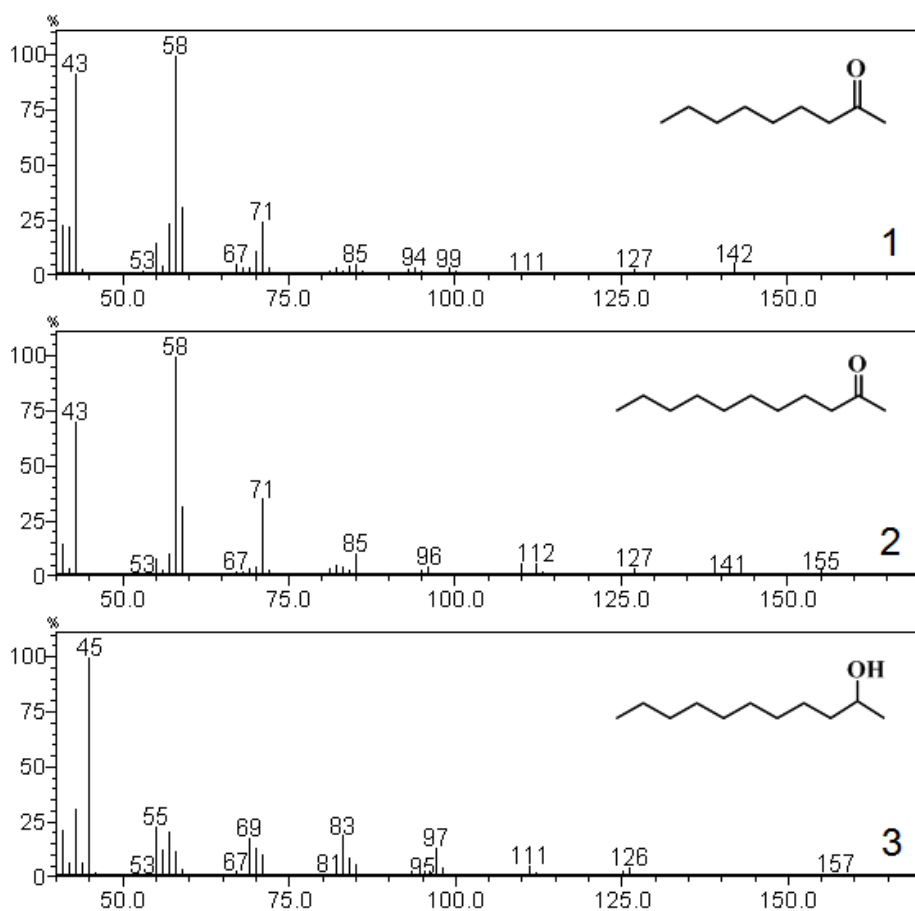


FIGURA 8 – COMPARAÇÃO DOS EXTRATOS MACHO-ESPECÍFICOS DE *Lobiopa insularis* (COLEOPTERA: NITIDULIDAE) NATURAL E SINTÉTICO

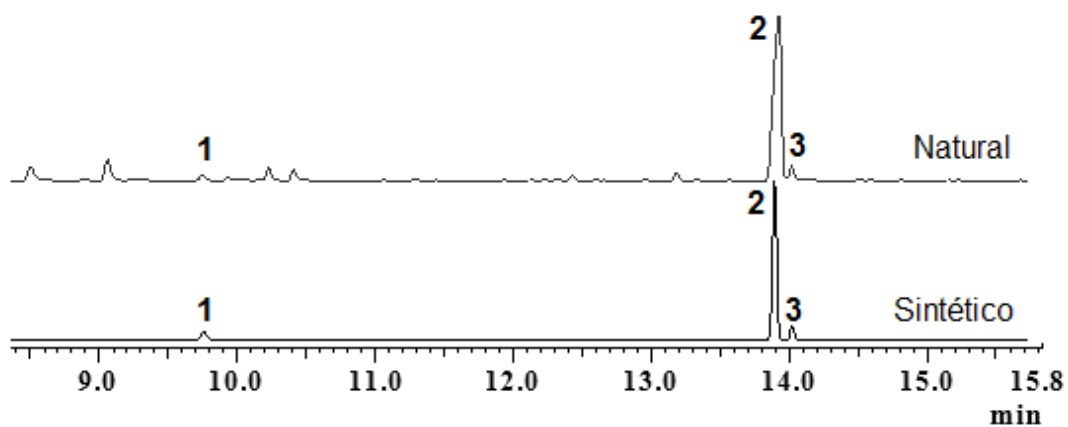


FIGURA 9 – QUANTIDADE MÉDIA (ng) (A) E PROPORÇÃO (B) DOS COMPOSTOS FEROMONAIIS MACHO-ESPECÍFICOS DE *Lobiopa insularis* (COLEOPTERA, NITUDULIDAE)

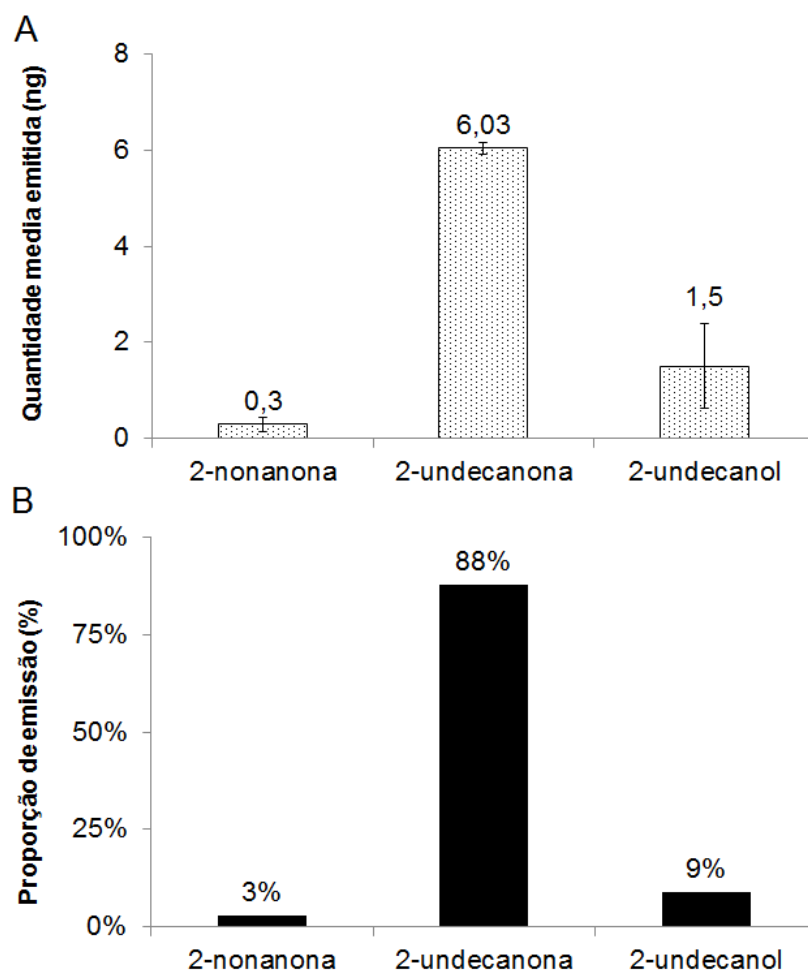
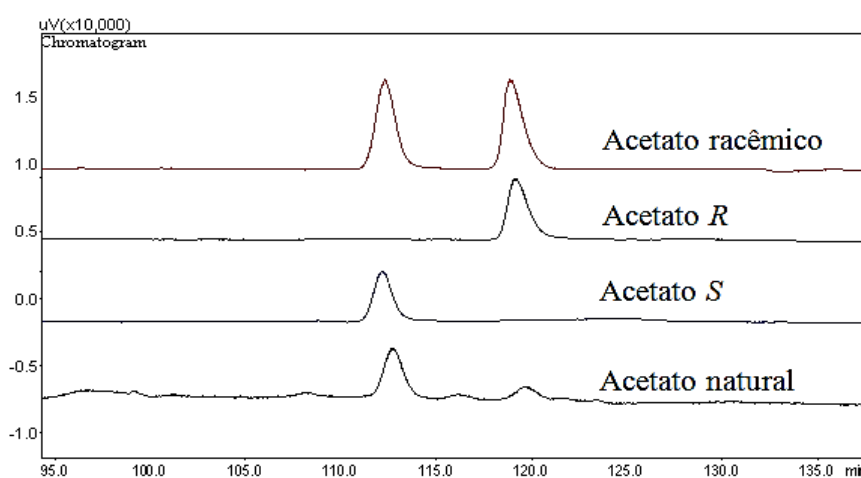
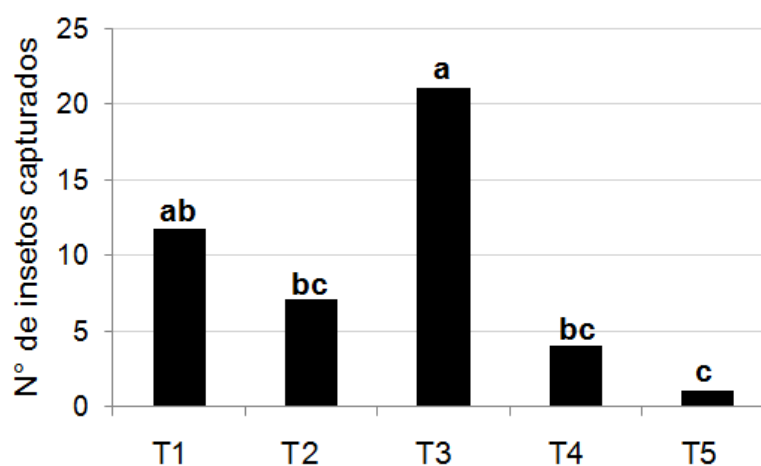


FIGURA 10 – CROMATOGRAMA DOS ACETATOS (S/R) RACÊMICO E NATURAL



O número médio total de indivíduos de *L. insularis* capturados foi de 2,3 (T1), 1,2 (T2), 3,5 (T3), 0,7 (T4), 0,2 (T5), e indicaram que houve diferença entre os tratamentos ($F: 4,380$; $P = 0,008$). O tratamento T3 (2-undecanona + 2-nonanona + morango) diferiu dos tratamentos T2 e T4 ($P = 0,01$) e do tratamento T5 ($P = 0,001$) (FIGURA 11). Os tratamentos T1 x T2, T1 x T3, T2 x T4, T2 x T5 e T4 x T5 não diferiram entre si ($P > 0,05$). Além disso, em todas as armadilhas, com exceção do controle T5 ($N = 1$ macho), foram capturados ambos os sexos ($N = 44$ insetos), com uma proporção média de aproximadamente 59% de machos para 41% de fêmeas, ou seja, 1 para 0,69 respectivamente, indicando que o feromônio de *L. insularis* tem função de agregação.

FIGURA 11 – Nº TOTAL DE *L. insularis* (COLEOPTERA, NITIDULIDAE) CAPTURADO POR TRATAMENTO EM CAMPO (T1-T5).



LEGENDA: 2-undecanona + 2-undecanol + 2-nonanona + morango (T1); 2-undecanona + 2-undecanol + morango (T2); 2-undecanona + 2-nonanona + morango (T3); 2-undecanona + morango (T4); e controle = hexano + morango (T5). [Letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos e letras iguais não houve diferença (a 5%: teste t (LSD))].

6 DISCUSSÃO

As análises em CG-EM evidenciaram a presença de três compostos macho-específicos em extratos analisados de *L. insularis* capturados diretamente do campo, sendo: uma cetona majoritária, outra minoritária e um álcool minoritário, ou seja, 2-undecanona, 2-nonanona e 2-undecanol, respectivamente.

Os feromônios de agregação são muito comuns em espécies do gênero *Carpophilus* (Nitidulidae), no qual alcenos metil e etil ramificados são comumente encontrados, como em *Carpophilus antiquus* (Melsheimer, 1844) (*E,E,E,E*-6,8-dietil-4-metil-3,5,7,9-dodecatetraeno) (BARTELT et al., 1993a) e em *Carpophilus mutilatus* Erichson, 1843 ((*E,E,E*)-5-etil-7-metil-3,5,7-undecatrieno) e ((*E,E,E*)-6-etil-4-metil-3,5,7-decatrieno, na proporção de 10:1) (BARTELT et al. 1993b). As armadilhas feromonais para espécies de *Carpophilus* além de atrativas para coespecíficos de ambos os sexos, são também atrativas para outras espécies do gênero. (ROGER et al., 1993; BARTELT et al., 1994; ZILKOWSKI; BARTELT, 1999).

A espécie de nitidulídeo, *Colopterus truncatus* (Randall, 1838), também teve seu feromônio de agregação identificado como uma mistura de compostos muito similares aos de *Carpophilus* spp. (*E,E,E*-3,5-dimetil-2,4,6-octatriene, (*E,E,E*)-4,6-dimetil-2,4,6-nonatrieno, (*E,E,E,E*)-3,5,7-trimetil-2,4,6,8-decatetraeno e (*E,E,E,E*)-4,6,8-trimetil-2,4,6,8-undecatetraeno), no entanto, nenhuma cetona ou álcool foi até então, identificado como feromônios emitidos por nitidulídeos (EL-SAYED, 2016).

Existem poucos estudos voltados à ecologia química de Nitidulidae, inclusive para o gênero *Lobiopa* Erichson 1843, que possui mais de 20 espécies descritas (CLINE; SCOTT, 2012; EL-SAYED, 2016), sendo esta a primeira descrição relacionada a compostos feromonais de agregação.

Não houve diferença entre o número de indivíduos capturados em campo pelo tratamento T3 (2-undecanona + 2-nonanona + morango) e T1 (2-undecanona + 2-undecanol + 2-nonanona + morango). No entanto, observou-se uma tendência maior de captura de insetos para o tratamento T3.

Ao compararmos os tratamentos T3 e T4 (2-undecanona + morango), observa-se que a adição da 2-nonanona resultou no aumento significativo de indivíduos capturados, visto que o tratamento T3 *versus* T4 diferiram estatisticamente entre si. O mesmo foi constatado entre os tratamentos T3 *versus* T2 (2-undecanona + 2-undecanol + morango).

Além disso, em campo foi utilizado o composto racêmico do álcool 2-undecanol devido ao menor custo de produção quando comparado à proporção do álcool natural (S 3,5:1 R). Embora compostos feromonais racêmicos terem se mostrado ativos na captura de insetos-praga em campo (LACEY et al., 2004; HUGHES et al., 2015), no presente estudo, a adição do álcool racêmico pode ter diminuído a capacidade de atratividade, apesar das análises estatísticas terem indicado a igualdade entre os tratamentos T1 e T3. O mesmo fator pode ter influenciado a baixa captura de insetos para o tratamento T2 (2-undecanona + 2-undecanol + morango).

A ação das substâncias químicas com fonte de atratividade para os insetos, no caso dos compostos sintéticos podem ainda agir de acordo com a proporção (MOOKHERJEE et al., 1993). Embora os compostos sintéticos racêmicos também atuem de forma atrativa quando comparado ao natural, em alguns casos podem reduzir a atratividade (OEHLISCHLAGER et al., 1988; POLAND; BORDEN, 1998). Assim, a percepção e interpretação de compostos racêmicos pode ser comprometida em relação à natural, devido à proporção entre os enantiômeros (BYERS, 1989).

Em relação ao cultivo do morangueiro realizado em sistema de produção convencional, no qual foi efetuado o experimento, a possível aplicação de agroquímicos podem ter influenciado o nível da população de *L. insularis* na área experimental e influenciado a taxa de captura.

Outro dado observado foi entre os tratamentos T3 e T5 (controle). A captura do tratamento controle (hexano + morango) revelou que a dieta natural (morango) não é tão atrativa à *L. insularis* quando à dieta natural somada aos compostos identificados, como observado entre os tratamentos (T1 *versus* T5) e (T3 *versus* T5), os quais diferiram estatisticamente do controle (T5).

Em relação à dieta natural, sabe-se que a adição do alimento ao composto feromonal isolado e identificado, intensifica a atratividade em campo (LIN et al., 1992; MOREIRA, 2005b; STRAPASSON, 2012). O sinergismo entre o feromônio de agregação somado à dieta já foi evidenciado para outras espécies desta família, como por exemplo, em *C. lugubris* (LIN et al., 1992; BARTELT et al., 2004), em que os testes de campo confirmaram o aumento em mais de 60% nas capturas na combinação de dieta natural e feromônio em comparação às capturas com feromônio. Além disso, os nitidulídeos mostram-se atraídos por compostos

provenientes de frutos em decomposição e por voláteis de plantas (BARTELT et al., 1991; BARTELT et al., 2004; MYERS, 2008; JENKINS et al., 2015).

Embora outras espécies estejam associadas à cultura do morangueiro, como por exemplo, *Stelidota geminata* e *Carpophilus* spp. (RONDON et al., 2004; POTTER et al., 2013), no presente trabalho, todas as armadilhas foram vistoriadas e não se constatou a presença de outras espécies de nitidulídeos, indicando que os compostos feromonais de *L. insularis* provavelmente são específicos.

Kelts (2005), com o objetivo de controlar *L. insularis* em campo, testou armadilhas contendo morangos (diferentes estágio de maturação) somado ao extrato obtido de aerações contendo o *bouquet* de compostos oriundos da alimentação de larvas e de adultos (e.g. ácidos graxos, aldeídos, cetonas, álcoois e hidrocarbonetos), sendo que essas armadilhas se mostraram atrativas em campo.

A cetona 2-nonanona representa um dos cinco compostos identificados no feromônio de agregação do tenebrionídeo *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797), sendo produzido pelos machos desta espécie (BARTELT et al., 2009). Esta cetona também foi descrita como um dos compostos atrativos para *Aethina tumida* Murray, 1867 (Coleoptera, Nitidulidae) identificado e testado em laboratório, a partir de voláteis de massa de pólen fermentada (TORTO et al., 2007; EL-SAYED, 2016). Além disso, já foram constatadas a presença de *A. tumida* e de *L. insularis* em colmeias de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (NEUMANN; ELZEN, 2004; ATKINSON; ELLIS, 2011).

Neste caso, a ocorrência de *L. insularis* pode estar associada à fermentação do pólen ocorrido pela ação fúngica (HOOD, 2004; Benda (2008 e Hood (2004). A atratividade da 2-nonanona é uma evidência de que esse composto faz parte do feromônio sexual e que poderia ser obtido da planta hospedeira ou através de alguma ação fúngica no morango.

É a primeira vez que o álcool minoritário, 2-undecanol, é citado como componente feromonal em Coleoptera, embora tenha sido decrito como componente feromonal de insetos das ordens Diptera e Hymenoptera (EL-SAYED, 2016). Entretanto, as cetonas, 2-nonanona e 2-undecanona, já foram descritas como componentes feromonais de diversas ordens de insetos, como Trichoptera, Diptera, Hymenoptera e Lepidoptera (EL-SAYED, 2016).

Para Coleoptera, a 2-undecanona foi citada como um composto atrativo de *Ahasverus advena* (Waltl, 1834) (Silvanidae) e *Phloeotribus*

scarabaeoides (Bernard, 1788) (Scolytidae) e a 2-nonanona como feromônio de espécies de Cerambycidae, Tenebrionidae, Scolytidae e Curculionidae (EL-SAYED, 2016). Exemplos da utilização de 2-undecanona em armadilhas de campo foram relatados para o besouro *Phloeotribus scarabaeoides* (Bernard, 1788) (Coleoptera: Scolytidae) em plantações de oliveira (*Olea europaea* L.) (SZUMAN-SZUMSKI et al., 1998), e para o controle da mosca-da-framboesa *Resseliella theobaldi* (Barnes, 1927) em combinação com o álcool, 2-undecanol, e outros componentes feromonais (HALL et al., 2009).

As comunicações mediante feromônios são influenciadas pela biologia da espécie, hábito de vida, comportamento gregário e maturação sexual (CROWSON, 1986; HOWSE et al., 1998). Por exemplo, os feromônios de agregação em Scolytinae estimulam a maturação dos ovos (CROWSON, 1986). Porém, há outros fatores que governam a atração e atividade sexual nos insetos. Segundo Ringo (1996), a atratividade ao sexo oposto se soma à corte, aos compostos cuticulares e a fatores genéticos e fisiológicos. Assim, os fatores como dieta e o comportamento frente ao fotoperíodo da espécie podem atuar na liberação dos compostos feromonais (WALKER, 1978; RINGO, 1996; HOWSE, 1998). Desde modo, por exemplo, para *A. tumida*, a presença da dieta e o hábito gregário sugerem a liberação de compostos cuticulares para o reconhecimento do coespecífico e de voláteis que induzam à cópula (WALKER, 1978; DICKENS, 2000; MUSTAFA et al., 2015). Além disso, para o outro nitidulídeo *Carpophilus freemani* Dobson, 1956, a emissão destes compostos feromonais de agregação, ocorre a partir de glândulas especializadas (NARDI et al., 1996; BARTELT; HOSSAIN, 2010).

No presente estudo, observou-se a partir das extrações de 12 horas de aeração que os machos de *L. insularis* liberam o feromônio de agregação durante a escotofase, indicando que a atividade sexual também é noturna. Os nitidulídeos em geral possuem hábito noturno de atividade. (PRICE; YOUNG, 2006), como já foi constatado, por exemplo, em bioensaios com *C. lugubris* e em avaliações sobre a atividade de *A. tumida* em colmeias de *A. mellifera* (LIN; PHELAN, 1991; ELLIS et al., 2003).

Em relação ao futuro uso do feromônio de *L. insularis* em armadilhas de campo, os resultados deste estudo corroboraram com os de Bartelt e Hossain, (2010) por indicarem que os feromônios de agregação de *Carpophilus* spp. são ferramentas promissoras no controle de nitidulídeos praga em campo. O presente

trabalho indica a utilização das duas cetonas, 2-undecanona e 2-nonanona, para monitoramento e/ou captura massal de *L. insularis* em campo.

Os dados obtidos contribuem fortemente para o monitoramento da broca-do-morangueiro, principalmente em sistemas de produção integrado e orgânico, já que sua utilização beneficia o meio-ambiente e a saúde do homem, quando comparada ao uso do controle químico convencional.

7 CONCLUSÃO

Ao observar e analisar os extratos de machos e fêmeas de *L. insularis* notou-se que três compostos macho-específicos foram liberados, 2-nonanona, 2-undecanol e 2-undecanona, nas quantidades de $0,30 \pm 0,15$ ng, de $6,03 \pm 5,15$ ng e de $1,50 \pm 1,37$ ng (em ng/inseto/24 horas) e proporção de 3:88:9, respectivamente. Além disso, a emissão destes compostos ocorre apenas durante a escotofase e que a mistura enantiomérica do 2-undecanol (extrato natural) é de 3,5:1, para os isômeros *S* e *R*, respectivamente.

A mistura ternária, contendo os três compostos macho-específicos e binária contendo as cetonas (2-undecanona e 2-nonanona) é atrativa para ambos os sexos, indicando que o feromônio de *L. insularis* tem função de agregação.

Além disso, sugere-se que estudos posteriores possam averiguar a influência da cor, tamanho e localização das armadilhas, assim como o efeito de diferentes dosagens dos compostos identificados. Com isso, visa-se complementar os resultados obtidos neste trabalho e utiliza-lo em larga escala como técnica alternativa do controle da broca-do-morangueiro em campo.

REFERÊNCIAS

AGROFIT (SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS) - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Secretaria de Defesa Agropecuária Departamento de Fiscalização de Insumos Agrícolas Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins. **Agrofit: Sistema de agrtóxicos fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em: 09 out. 2016.

AGROFIT (SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS) - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de coleta de amostras do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em produtos de origem vegetal** / Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária.– Brasília: Mapa/ACS, 2013. 37 p. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/manual-coleta.pdf> Acesso em: 09 out. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Ingredientes ativos pesquisados pelos laboratórios participantes do PARA e os limites máximo de resíduos por cultura considerados para as análises realizadas em 2015**. Disponível em:< <http://portal.anvisa.gov.br/programa-de-analise-de-registro-de-agrotoxicos-para> > Acesso em: 10 out. 2016.

ANDERSON, M. K.; RODERICK, W. **Plant guide: pacific beach strawberry. *Fragaria chiloensis* (L.) P. Mill. ssp. *pacifica* Staudt. Plant Symbol = FRCHP**. Davis: University of California, 2006. USDA, NRCS, National Plant Data Center. 2006.

ANDRADE, C. A. W. **Pós-colheita de morangos produzidos no sistema de cultivo orgânico versus sistema convencional em repetidas avaliações**. 2013. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2013.

ANTUNES, L. E. C.; PERES, A. N. Strawberry production in Brazil and South America. **International Journal of Fruit Science**, England, v.13, n. 1-2, 156-161, Jan. 2013.

ARAUJO, S. M. et al. Uso de inseticidas organofosforados nos Pólos de Produção Na Ilha de São Luís (MA): Condições de Trabalho e Contaminação de Hortaliças. Pesticidas: R.**Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 11, p. 159-179, jan./dez. 2001.

ATKINSON, E. B.; ELLIS, J. D. Adaptive behaviour of honeybees (*Apis mellifera*) toward beetle invaders exhibiting various levels of colony integration. **Physiological entomology**, v. 36, n. 3, p. 282-289, 2011.

AYRES, Manuel et al. BioEstat 5.0. **Imprensa Oficial do Estado do Pará**, v. 323, 2007.

BARTELT, R. J. et al. Aggregation pheromone of *Carpophilus lugubris*: new pest management tools for the nitidulid beetles. In: **ACS Symposium series-American Chemical Society (USA)**. p. 14, 1991.

BARTELT, R. J. et al. Responses of *Carpophilus hemipterus* (Coleoptera: Nitidulidae) and other sap beetles to the pheromone of *C. hemipterus* and host-related coattractants in California field tests. **Environmental Entomology**, v. 21, n. 5, p. 1143-1153, 1992.

BARTELT, R.J. et al. Male-produced aggregation pheromone of *Carpophilus mutilatus* (Coleoptera: Nitidulidae). **Journal of chemical ecology**, v. 19, p. 107-118, 1993a.

BARTELT, R.J. et al. Aggregation pheromone of *Carpophilus antiquus* (Coleoptera: Nitidulidae) and kairomonal use of *C. lugubris* pheromone by *C. antiquus*. **Journal of chemical ecology**, v. 19, p. 2203-2216, 1993b.

BARTELT, R. J. et al. Male-produced aggregation pheromone of *Carpophilus sayi*, a nitidulid vector of oak wilt disease, and pheromonal comparison with *Carpophilus lugubris*. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 6, n. 1, p. 39-46, 2004.

BARTELT, R. J. et al. Male-produced aggregation pheromone of the lesser mealworm beetle, *Alphitobius diaperinus*. **Journal of chemical ecology**, v. 35, n. 4, p. 422-434, 2009.

BARTELT, R. J.; HOSSAIN, M. S. Chemical ecology of *Carpophilus* sap beetles (Coleoptera: Nitidulidae) and development of an environmentally friendly method of crop protection. **Terrestrial arthropod reviews**, v. 3, n. 1, p. 29-61, 2010.

BRASIL. Instrução Normativa. n.º 42, de 05 de Janeiro de 2009: Arts 1 e 2. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 42, 31 dez. 2008. Seção 1, p. 2. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/IN%2042_2008%20-%20PNCRC%20Vegetal.pdf> Acesso em: 09 out. 2016.

BENDA, N. D. Detection and characterization of *kodamaea ohmeri* associated with small hive beetle *Aethina tumida* infesting honey bee hives. **Journal of Apicultural Research**, v. 47, n. 3, p. 194–201, 2008.

BEKETOV, M. A. et al. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 27, p. 11039-11043, 2013.

BENÁ, D. C.; FUHRMANN, J. Descrição Do Primeiro e último Instares Larvais de *Lobiopa Insularis* (Laporte), (Coleoptera, Nitidulidae, Nitidulinae). In: 22º REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, n.2., 2009, São Paulo. **Anais**. São Paulo: Biológico, 2009. p.83-202.

BERGSTROM, G. Chemical ecology = Chemical + Ecology. **Pure Appl. Chem**, v. 79, n. 12, p. 2.305-2.323, 2007.

BERNARDI, D. et al. **Guia para a Identificação e Monitoramento de Pragas e seus Inimigos Naturais em Morangueiro**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa Clima Temperado, 2015.

BORTOLI, L. C. et al. Biologia e tabela de vida de fertilidade de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em morangueiro e videira. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 34, n. 4, p. 1068-1073, dez. 2012.

BORTOLI, L. C. et al. Biologia e tabela de vida de fertilidade da broca-do-morangueiro criada em dieta artificial. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.49, n.2, p.144-147, fev. 2014.

BOTTON, M. et al. **Sistema de Produção de Morango para Mesa na Região da Serra Gaúcha e Encosta Superior do Nordeste**. Rio Grande do Sul: Embrapa Uva e Vinho. Sistema de Produção, 6. 2005. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/MesaSerraGaucha/autores.htm>>. Acesso em: 18 set. 2016.

BOTTON, M. et al. **Biologia, Monitoramento e Controle de *Lobiopa insularis* (Castelnau, 1840) (Coleoptera: Nitidulidae) na Cultura do Morangueiro no Rio Grande do Sul**. Rio Grande do Sul: Embrapa Uva e Vinho, 2014. Circular Técnica 113.

BOTTON, M. et al. **Produção integrada de uva para processamento: Manejo de Pragas e Doenças**. Brasília, Distrito Federal. Ed. Embrapa Uva e Vinho, p. 32. 2015

BUTENANDT, A. et al. Über den sexual-lockstoff des seidenspinners *Bombyx Mori-rein* darstellung und konstitution. **Zeitschrift Fur Naturforschung Part B-Chemie Biochemie Biophysik Biologie Und Verwandten Gebiete**, v. 14, n. 4, p. 283-284, 1959.

BLUMBERG, D. et al. Responses to synthetic aggregation pheromones, host-related volatiles, and their combinations by *Carpophilus* spp (Coleoptera: Nitidulidae) in laboratory and field tests. **Environmental Entomology**, v. 22, n. 4, p. 837–842, 1993. Disponível em: <file:///y:/10762.pdf>.

BYERS, J. A. Reviews Chemical ecology of bark beetles. **Experientia**, v. 45, p. 271–283, 1989.

CARSON, R. **Primavera Silenciosa**. Tradução de: Raul de Polillo. São Paulo. 2. ed. Portico. 1962. Título original: Silent Spring.

CARVALHO, S.P. et al. O cultivo do morangueiro no Brasil. In. ZAWADNEAK, M. A. C. et al. **Como produzir morangos**. Curitiba: Ed. UFPR, 2014. p. 15-31.

CLINE, A. R.; KINNEE, A. S. A new species of sap beetle (Coleoptera: Nitidulidae) from Baja California Sur, Mexico, with a review of the genus *Lobiopa* Erichson. **Pan-Pacific Entomologist**, Vol. 88, n. 2, p. 202-211, Apr 2012.

CLINE, A. R. **Revision of Pocadius Erichson (Coleoptera: Nitidulidae).**– **University of Missouri.** Thesis (Doctor of Philosophy). Department of Entomology. University of Missouri, 2005.

COELHO-JUNIOR, J. M. Strawberry cultivation in Brazil. *Revista GEAMA. The Journal of environment Scientific Review*. Pernambuco. v.6, n.1, p. 122-130, set. 2016a.

COELHO-JUNIOR, J. M. Strawberry cultivars: Knowing to expand and reduce the environmental impacts. *Revista GEAMA. The Journal of environment Scientific*. Pernambuco. v.6, n.1, p. 138-147, mai. 2016b.

COSTA, A. F. et al. Adaptability and stability of strawberry cultivars using a mixed model. *Acta Scientiarum. Agronomy* (Impresso), v. 37, n.4. p. 435 - 440, out. 2015.

COSTA, A. F. et al. Origem, Evolução e o Melhoramento do morangueiro. In. ZAWADNEAK, M. A. C. et al. **Como produzir morangos**. Curitiba: Ed. UFPR, 2014. p. 33-68.

COOLEY, D. R. et al. Integrated pest management programs for strawberries in the northeastern United States. *Plant Disease*, v. 80, n. 3, p. 228-237, 1996.

CONNELL, W. A. et al. A key to *Carpophilus* sap beetles associated with stored foods in the United States (Coleoptera: Nitidulidae). *Cooperative Plant Pest Report*, v. 2, n. 23, p. 398-404, 1977.

CROWSON, R. A. **The biology of the Coleoptera**. Academic Press, p. 733, 1986.

CRUZ, I. et al. Using sex pheromone traps in the decision-making process for pesticide application against fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* [Smith][Lepidoptera: Noctuidae]) larvae in maize. *International Journal of Pest Management*, v. 58, n. 1, p. 83-90, 2012.

DA SILVA CUNHA, D. A. et al. Insetos Polinizadores em Sistemas Agrícolas. **Ensaio e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 18, n. 4, 2015.

DE OLANDA, G. B. et al. Perspectivas para a produção de morangos no sul do Brasil: uma revisão sobre os sistemas de produção e as práticas de manejo. **Revista da Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp**, p. 16, 2016.

DE SOUZA, C. P. R. et al. Uso de Feromônio no Controle de Percevejos: Uma Alternativa Sustentável Para Agricultura do Mato Grosso. **Revista de Estudos Sociais**, v. 17, n. 34, p. 195-202, 2015.

DICKENS, J. C. Sexual maturation and temporal variation of neural responses in adult Colorado potato beetles to volatiles emitted by potato plants. *Journal of Chemical Ecology*, v. 26, n. 5, p. 1265-1279, 2000.

EL-SAYED, A. M. The pherobase: database of pheromones and Semiochemicals. **See** <http://www.pherobase.com>, 2016.

ELLIS, J. D. et al. Prison construction and guarding behaviour by European honeybees is dependent on inmate small hive beetle density. **Naturwissenschaften**, v. 90, n. 8, p. 382-384, 2003.

FABRE, J. H. **Social life in insect World.**, T.F. Unwin London, 1912.

FADINI, M. A. M. et al. Controle de ácaros em sistema de produção integrada de morango. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1271-1277, 2004.

FAIT, A. et al. **Preventing health risks from the use of pesticides in agriculture.** WHO, 2001.

FERREIRA, J. T. B.; ZARBIN, P. H. G. Amor ao primeiro odor: A comunicação química entre os insetos. **Química Nova na Escola**, v.2, n.7, p.3 - 6, 1998.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 13 jul. 2016.

FORNARI, R. A. et al. Evaluation of damage, food attractants and population dynamics of strawberry sap beetle. **Hortic. Bras.**, Vitoria da Conquista , v.31, n.3, p. 380-385, Set. 2013.

FORNAZIER, M. J. et al. Finding of the strawberry borer *Lobiopa insularis* in the State of Espírito Santo. **Comunicado Técnico ENCAPA**, v 44, n. 3. 1986.

GALLO, D. et al. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba, SP, Brasil: FEALQ, 2002.

GUIMARÃES, A. J. et al. **Ocorrência e manejo da broca-do-morango no Distrito Federal**. Distrito Federal: Embrapa Hortaliças, 2009. Comunicado Técnico 74.
HALL, D. R. et al (S)-2-acetoxy-5-undecanone, female sex pheromone of the raspberry cane midge, *Resseliella theobaldi* (Barnes). **Journal of chemical ecology**, v. 35, n. 2, p. 230-242, 2009.

HOKKANEN, H. M. T. Trap cropping in pest management. **Annual review of entomology**, v. 36, n. 1, p. 119-138, 1991.

HOOD, W. M. . The small hive beetle, *Aethina tumida*: a review. **Bee World**, v. 85, n. September, p. 51–59, 2004.

HOSSAIN, M. S.; WILLIAMS, D. G. Phenology of carpophilus beetle populations (Coleoptera: Nitidulidae, Carpophilus spp.) in a fruit dump in northern Victoria. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 43, n. 10, p. 1275–1279, 2003.

HOWSE, P. et al. **Insect pheromones and their use in pest management.** Springer Science & Business Media, p. 357, 1998.

HUGHES, G. P. et al. Determination of the absolute configuration of female-produced contact sex pheromone components of the longhorned beetle, *Neoclytus acuminatus acuminatus* (F). **Journal of chemical ecology**, v. 41, n. 11, p. 1050-1057, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **Relatórios de Comercialização de Agrotóxicos - Boletim Anual de Produção, Importação, Exportação e Vendas de Agrotóxicos no Brasil**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas-qa/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/pagina-3>>. Acesso em: 22 set. 2016.

JAMES, D. G. et al. Mass-trapping of *Carpophilus* spp (Coleoptera: Nitidulidae) in stone fruit orchards using synthetic aggregation pheromones and a coattractant: Development of a strategy for population suppression. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, n. 8, p. 1541–1556, 1996.

JAMES, D. G. et al. Pheromone-trapping of *Carpophilus* spp. (Coleoptera: Nitidulidae) in stone fruit orchards near Gosford, New South Wales: Fauna, seasonality and effect of insecticides. **Australian Journal of Entomology**, v. 39, n. 4, p. 310–315, 2000.

JENKINS, D. A. et al. Attraction of Pollinators to Atemoya (*Annona squamosa* *Annona cherimola*) in Puerto Rico Using Commercial Lures and Food Attractants. **Journal of economic entomology**, v. 108, n. 4, p. 1923-1929, 2015.

KARLSON, P; LÜSCHER, M. 'Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. **Nature**, n. 183, p. 55-56, 1959a.

KARLSON, P; BUTENANDT, A. Pheromones (ectohormones) in insects. **Annual review of entomology**, v. 4, n. 1, p. 39-58, 1959b.

KELTS, C. A. **Evaluation of attractants and monitoring for sap beetle control in strawberries**. 2005. 88 f. Tese (Mestrado em Ciências) - University of Florida, Florida, 2005. Disponível em: <http://ufdcimages.uflib.ufl.edu/UF/E0/01/20/62/00001/kelts_c.pdf>. Acesso em 12 dez. 2016.

KOVALESKI, A. et al. **Produção de morangos no sistema semi-Hidropônico**. Rio Grande do Sul: Embrapa Uva e Vinho, Sistemas de Produção, 15. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/MorangoSemIHidroponico/autores.htm>>. Acesso em: 18 set. 2016.

LACEY, E. S. et al. Male-produced aggregation pheromone of the cerambycid beetle *Neoclytus acuminatus acuminatus*. **Journal of chemical ecology**, v. 30, n. 8, p. 1493-1507, 2004.

LASOŃ, A. et al. *Lobiopa insularis* (Castelnau, 1840)(Coleoptera: Nitidulidae: Nitidulinae)-an introduced beetle species new for the Palaearctic fauna. **Polish journal of entomology**, v. 78, n. 4, p. 347-350, 2009.

LASONÍ, A.; GHAHARI, H. A checklist of the Kateretidae and Nitidulidae of Iran (Coleoptera: Cucujoidea). **Zootaxa**, v. 3746, n. 1, p. 101-122, 2013.

LIMA, F. J. C. et al. Inseticida Organofosforado Metamidofós: Aspectos Toxicológicos e Analíticos. Pesticidas: R.**Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 11, p. 17-34, jan./dez. 2001.

LIMA, M. A. Qualidade de morango quanto à segurança. Vigilância Sanitária em Debate: **Sociedade, Ciência & Tecnologia**, [S.l.], v. 3, n. 4, p. 50-54, Nov. 2015.

LIN, H. et al. Synergism between synthetic food odors and the aggregation pheromone for attracting *Carpophilus lugubris* in the field (Coleoptera: Nitidulidae). **Environmental entomology**, v. 21, n. 1, p. 156-159, 1992.

LIN, H; PHELAN, P. L. Identification of food volatiles attractive to dusky sap beetle, *Carpophilus lugubris* (Coleoptera: Nitidulidae). **Journal of chemical ecology**, v. 17, n. 6, p. 1273-1286, 1991.

LOUGHNER, R. L. et al. Strawberry sap beetle (Coleoptera: Nitidulidae) distribution in New York and differential movement in two types of habitat. **Journal of Entomological Science**, v. 42, n. 4, p. 603-609, 2007.

MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO). Instituto de Tecnologia de Pernambuco - Portaria SDA Nº 277, De 19 De Agosto De 2014. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/rede-nacional-de-laboratorios-agropecuarios/documentos-rede-nacional-de-laboratorios-agropecuarios/rca-itep-20_08_2014. Acesso: jan 2017.

MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, p. 386, 2001.

MOOKHERJEE, B. D. et al. Semio activity of flavor and fragrance molecules on various insect species. In: **ACS symposium series (USA)**. 1993.

MORAES, G. C.; AVILA, C. J. **Insetos-praga associados ao solo na cultura da cana-de-açúcar, no estado de Mato Grosso do Sul** (Embrapa Agropecuária Oeste. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, p. 37, 2014. Boletim Técnico 66.

MOREIRA, M. A. B. et al. Feromônios associados aos coleópteros praga de produtos armazenados, **Química Nova**, v. 28, N. 3, 472-477, 2005a.

MOREIRA, M. A. B. **Identificação, dinâmica da produção e potencial de uso do feromônio de agregação de *Pseudopiazurus obesus* (Boheman, 1838)(Coleoptera: Curculionidae)**. 2005. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)- Setor Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005b.

MORI, N. C. et al. Biochemical and toxicological changes among family farmers from the Alto Jacui region, Rio Grande do Sul state, Brazil. **Scientia Medica**, v. 25, n. 3, p. 20999, 2015.

MUSTAFA, S. G. et al. Age and aggregation trigger mating behaviour in the small hive beetle, *Aethina tumida* (Nitidulidae). **The Science of Nature**, v. 102, n. 9-10, p. 49, 2015.

MYERS, L. **Sap Beetles (of Florida), Nitidulidae (Insecta: Coleoptera: Nitidulidae). Featured Creatures**. Entomology & Nematology. Reviewed: May, 2016. Disponível em: < http://entomology.ifas.ufl.edu/creatures/field/corn/sap_beetles.htm > Acesso em: 12 de Set. 2016.

NARDI, J. B. et al. Fine structure of cells specialized for secretion of aggregation pheromone in a nitidulid beetle *Carpophilus freemani* (Coleoptera: Nitidulidae). **Tissue and Cell**, v. 28, n. 1, p. 43-52, 1996.

NEUMANN, P; ELZEN, P. The biology of the small hive beetle (*Aethina tumida*, Coleoptera: Nitidulidae): Gaps in our knowledge of an invasive species. **Apidologie**, v. 35, n. 3, p. 229-247, 2004.

OEHLSCHLAGER, A. C. et al. Chemical communication in cucujid grain beetles. **Journal of chemical ecology**, v. 14, n. 11, p. 2071-2098, 1988.

OLIVEIRA, C. B. A.; BONOW, S. Novos desafios para o melhoramento genético da cultura do morangueiro no Brasil. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v. 33, n. 268, p.21-26, maio/jun, 2012.

PARSONS, C.T. A revision of Nearctic Nitidulidae (Coleoptera). **Bulletin of Comparative Zoology**, 92, 121–248, 1943.

PATERNIANI, E. Agricultura sustentável nos trópicos. **Estud. av.**, São Paulo, v. 15, n. 43, p. 303-326, dez. 2001.

PAULETTI, V. Nutrição Mineral de Plantas: Nutrição do Morangueiro. In: ZAWADNEAK, M. A. C. et al. **Como produzir morangos**. Curitiba: Ed. UFPR, 2014. p. 69-85.

PEREIRA, W. R. et al. Produtividade de cultivares de morangueiro, submetidas a diferentes épocas de plantio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 31, n. 3, p. 500-503, jul./set. 2013.

PIMENTEL, D. Environmental and Economic Costs of the application of Pesticides Primarily in the United States. **Environment, Development and Sustainability**, v. 7, n. 3, p. 229–252, 2005.

PIMENTEL, D. et al. Conserving biological diversity in agricultural/forestry systems. **BioScience**, v. 42, n. 5, p. 354-362, 1992.

PINTO-ZEVALLOS, D. M.; ZARBIN, P. H. G. A química na agricultura: perspectivas para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1509-1513, 2013.

PIRES, C. S. S. et al. Potencial de uso de armadilhas iscadas com o feromônio sexual do percevejo marrom, *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae), para o monitoramento populacional de percevejos praga da soja. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología** (Costa Rica) n. 77, p. 1-8, 2006.

PRICE, J. F.; NAGLE, C. A. Novaluron for control of larval Sap Beetles in Strawberries. **Proc. Fla. State Hort. Soc**, n. 123, p. 179-182, 2010.

PRICE, M. B.; YOUNG, D. K. An annotated checklist of Wisconsin sap and short-winged flower beetles (Coleoptera: Nitidulidae, Kateretidae). **Insecta Mundi**, v. 20, n. 1-2, p. 69-84, 2006.

PROGRAMA DE ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS (PARA). **Relatório complementar relativo à segunda etapa das análises de amostras coletadas em 2012**. Gerência-Geral de Toxicologia. Brasília, out. 2014.

POLAND, T. M.; BORDEN, J. H. Disruption of secondary attraction of the spruce beetle, *Dendroctonus rufipennis*, by pheromones of two sympatric species. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, n. 1, p. 151-166, 1998.

POTTER, M. A. et al. A survey of sap beetles (Coleoptera: Nitidulidae) in strawberry fields in West Central Florida. **Florida Entomologist**, v. 96, n. 3, p. 1188-1189, 2013.
POWELL, G. S. A Checklist of the Sap Beetle (Coleoptera: Nitidulidae) Fauna of Indiana, with Notes on Effective Sap Beetle Trapping. **Insecta Mundi**, 0424: p. 1-9, 2015.

RECENA, M. C. P.; CALDAS, E. D. Percepção de risco, atitudes e práticas no uso de agrotóxicos entre agricultores de Culturama, MS. **Revista de Saúde Pública**, v. 42, n. 2, p. 294-301, 2008.

RINGO, J. Sexual receptivity in insects. **Annual review of entomology**, v. 41, n. 1, p. 473-494, 1996.

RONDON, S. et al. **Sap Beetle (Coleoptera: Nitidulidae) Management in Strawberries**. Horticultural Sciences Department. Publication date: October 2004. Reviewed February 2014. The Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS). p. 1-3, Disponível em: < <http://edis.ifas.ufl.edu/> > Acesso em: 16 de Set. 2016.

ROZEN, J. G. Preliminary Systematic Study of the Pupae of the Nitidulidae (Coleoptera). American Museum Novitates. **American Museum Of Natural History**, New York, n. 2124, p. 01-14, mar, 1963.

SANTOS, J. S. et al. Relato da vivência realizado no sistema de produção orgânico no Recôncavo da Bahia. **Cadernos de Agroecologia**, v. 10, n. 3, 2016.

SILVA, F. M. et al. Detecção de Resíduos de Agrotóxicos no Mel de Abelha. **ACTA Apicola Brasilica**, v. 2, n. 2, p. 17-27, 2014.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA VEGETAL (SINDIVEG). **Balanço 2015: Setor de agroquímicos confirma queda**

de vendas. p. 1-3. 2016. Disponível em: < <http://www.sindiveg.org.br/docs/balanco-2015.pdf> > Acesso em: 10 out. 2016.

SPECHT, S. Morangos do Vale do Caí-RS: um sistema agroalimentar territorializado/Strawberry from Vale do Caí-RS: a located agrifood system. **CAMPO-TERRITÓRIO: revista de geografia agrária**, v. 9, n. 19, 2014.

STRAPASSON, P. **Percepção química de *Grapholita molesta* (Busck)(Lepidoptera: Tortricidae) a substâncias alimentares e voláteis de maçã.** 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Setor Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

SZUMAN-SZUMSKI, K. J. et al. Identification of chemicals attractive to the olive bark beetle, *Phloeotribus scarabaeoides*, in laboratory bioassays. **BioControl**, v. 43, n. 3, p. 345-355, 1998.

TORTO, B. et al. Composition of volatiles from fermenting pollen dough and attractiveness to the small hive beetle *Aethina tumida*, a parasite of the honeybee *Apis mellifera*. **Apidologie**, v. 38, n. 4, p. 380-389, 2007.

TREMATERRA, P. Integrated pest management of stored-product insects: practical utilization of pheromones. **Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz**, v. 70, n. 3, p. 41-44, 1997.

VILELA, E. F. Adoção de feromônios no manejo integrado de pragas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 13, p. 313-318, 1992.

VILELA, E. F.; LÚCIA, T. D. M. C. Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação. In: **Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação**. Holos editora, 2001.

WALKER, WILLIAM F. Mating behaviour in *Oncopeltus fasciatus* (Dallas): effects of diet, photoperiod, juvenoids and precocene II. **Physiological Entomology**, v. 3, n. 2, p. 147-155, 1978.

WILSON, B. E. et al. The Active Space of Mexican Rice Borer Pheromone Traps. **Journal of Chemical Ecology**, p. 1-8, 2016.

WILLIAMS, R. N.; DE SALLES, L. A. B. Nitidulidae Associated with Fruit Crops in Rio Grande do Sul, Brazil. **Florida Entomologist**, p. 298-302, 1986.

WHEELER, W. M. Jean-Henri Fabre. **The Journal of Animal Behavior**, v. 6, p. 74, 1916.

WRIGHT, R. H. After pesticides—what?. **Nature**, v. 204, n. 4954, p. 121-125, 1964.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Pesticides and Their Application: For the control of vectors and pests of public health importance.** Department of Control of Neglected Tropical Diseases. WHO Pesticide evaluation scheme (WHOPES). Ed. 6. p. 01-125. 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) & FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Summary Report from the May 2016 Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR)**. p. 01-06. 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/en/>>. Acesso em: 29 out. 2016.

YANG, N. et al. Biological pest management by predators and parasitoids in the greenhouse vegetables in China. **Biological Control**, v. 68, p. 92-102, 2014.

ZARBIN, P. H. G. et al. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 3, 2009.

ZARBIN, P. H. G. Extração, Isolamento e Identificação de substâncias Voláteis de insetos. In: FERREIRA. et al. **Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação**. Holos editora, 2001.

ZAWADNEAK, M. A. C. et al. Pragas do Morangueiro. In: **Como produzir morangos**. Curitiba: Ed. UFPR, 2014. p. 101-145.

ZILKOWSKI, B. W.; BARTELT, R. J. Cross-attraction of *Carpophilus humeralis* to pheromone components of other *Carpophilus* species. **Journal of chemical ecology**, v. 25, n. 8, p. 1759-1770, 1999.